AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT BASEL
(PROF. R. STAEHELIN)

ÜBER DIE HITZEKOAGULATION STARK VERDÜNNTEN MENSCHLICHEN SERUMS

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT VON

SIDNEY AUERBACH
AUS NEW YORK (U. S. A.)

1936

DRUCK DER UNIVERSITÄTSDRUCKEREI H. STÜRTZ A.G., WÜRZBURG

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. *R. Staehelin*.

Tag der Promotion: 24. November 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus „Zeitschrift für klinische Medizin“ 1936.
Verlag von Julius Springer, Berlin.

Nachdem *Schade* im Jahre 1909 und bald darauf *v. Hoefft* gezeigt hatten, daß die Koagulationstemperatur des menschlichen Serums während verschiedener Erkrankungen erheblich von der Norm abweichen kann, haben sich zahlreiche Autoren mit der Koagulationstemperatur pathologischer Seren befaßt (*Mayer* und *Rosenow*, *Ehrenteil* und *Weis-Osborn*, *Cossu Didaco* u. a. m.). Dabei hat sich gezeigt, daß die Elektrolytkonzentration für die Koagulation des Serums eine große Rolle spielt. Diese Bestimmungen setzten jedoch eine zu subtile Technik voraus und waren zu zeitraubend, um in größeren klinischen Untersuchungsreihen Anwendung zu finden.

Die von *O. Weltmann* im Jahre 1930 beschriebene, technisch leicht auszuführende Koagulationsprobe des 50fach verdünnten Serums unter Zusatz kleiner Calciumchloridmengen hat das Interesse an der Hitzekoagulation neu entfacht. Zahlreiche Arbeiten haben uns über den Ausfall der *Weltmann*schen Koagulationsreaktion (WeR.) bei den verschiedensten Krankheitszuständen orientiert und im wesentlichen immer wieder die schon von *Weltmann* gegebene Deutung bestätigt, daß eine erst bei höherer Elektrolytkonzentration eintretende Flockung (Verkürzung nach *Weltmann*) für entzündliche Prozesse, eine Koagulation, die schon bei niederer Elektrolytkonzentration stattfindet (Verbreitung nach *Weltmann*) für „fibröse Prozesse" (speziell Lebercirrhose) charakteristisch ist.

Mehrere Autoren haben sich mit der Ursache des verschiedenen Verhaltens pathologischer Seren bei Calciumchloridzusatz und Erhitzen auf 100° befaßt, ohne eine Erklärung geben zu können. Wir wissen nur, daß es entweder Veränderungen der Serumalbumine oder irgendeiner diesen anhaftenden Substanz ist, die für die Flockung verantwortlich sein müssen. Eigene Versuche, die diese Frage klären sollten, ergaben keine Beziehung zwischen dem Grad der Flockung und dem Mengenverhältnis der einzelnen Albuminfraktionen, hingegen eine auffallende Parallelität zwischen der Koagulation der in Pufferlösung 50fach verdünnten und der nach *Weltmann* mit destilliertem Wasser unter Zusatz von kleinen Calciumchloridmengen 50fach verdünnten Seren bei Erhitzung im kochenden Wasserbad.

Nach *Weltmann* und *Sieder* ist die Reaktion folgendermaßen anzustellen. Elf arithmetisch abgestufte Calciumchloridlösungen zwischen 0,05‰ und 0,50‰ werden aus einer 5%igen Stammlösung von Calcium chloratum crystallisatum hergestellt ($CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$, Merck, 99,14 g auf 1 Liter aufgefüllt, spez. Gew. 1040). In 11 dünnwandige Reagensgläser kommen nun je 5,0 ccm der verschiedenen Calciumchlorid-

Tabelle 1. WeR. und

Nr.	Pat.	Diagnose	WeR.		Gesamteiweiß g-%
			Nr.	$CaCl_2$ ‰	
1	Wa.	Tbc. pulm. duplex cavernosa, Osteomyelitis	IV	0,70	6,15
2	Ha.	Chronische nephritis m. st. Nephrot. Komponente	I	0,55	4,70
3	Fr.	Rechts kavernöse Lungenphthise (Pneu. art.)	3	0,40	8,35
4	Fr.	Nr. 3 (nach 3 Tagen Redoxon 0,1 g intravenös	3	0,40	8,53
5	Gu.	Ulcus duodeni	4	0,35	7,36
6	Vol.	Apoplexie, Myodegeneratio cordis	5	0,30	7,94
7	Mo.	Akute myeloische Leukämie, Myodegeneratio cordis	6	0,25	6,11
8	Mo.	Nr. 7 (1 Woche nachher)	7	0,20	7,57
9	Mo.	Adialysat von Nr. 8	11	0,04	2,67
10	Me.	Anaemia perniciosa	6	0,25	6,00
11	Sa.	Status nach Apoplexie, Hypertonie	6	0,25	8,33
12	Mü.	Streptokokkensepsis	6	0,25	7,89
13	Hö.	Herzinsuffizienz bei Myodegeneratio cordis und Hypertonie	6	0,25	8,24
14	Os.	$KMnO_4$-Vergiftung	6	0,25	7,82
15	Im.	Cholecystopathie bei C_2H_5OH-Schädigung	6	0,25	7,90
16	Je.	Nihil. (4 Tage Fasten)	6	0,25	8,10
17	Be.	Nihil.	6	0,25	8,42
18	Si.	Cirrhosis hepatis	7	0,20	6,16
19	Voc.	Stauungs- und Laennecsche Cirrhosis	7	0,20	7,52
20	Voc.	Nr. 19 (2 Wochen später)	7	0,20	7,53
21	Se.	Cirrhosis hepatis	7	0,20	7,76
22	Se.	Nr. 21 (nach 8 Tagen Redoxon 0,1 g intravenös)	7	0,20	8,19
23	Weh.	Insufficientia cordis, Suspekt auf Ca. ventr.	7	0,20	8,76
24	Wei.	Nihil.	7	0,20	8,22
25	Wer.	Chronische fibrot. Lungentbc., Cirrhosis hepatis	7	0,20	8,41
26	Wer.	Nr. 25 (nach 9 Tagen Redoxon 0,1 g intravenös)	7	0,20	9,01
27	Bl.	Paranitroanilinvergiftung	7,5	0,175	8,51
28	Sp.	Spru	8	0,15	7,78
29	Ny.	Cirrhosis hepatis	8	0,15	8,77
30	La.	Cirrhosis hepatis	11	0,04	8,58

lösungen und hierzu je 0,1 ccm zentrifugiertes, hämoglobinfreies Serum. Die Röhrchen werden so numeriert, daß 0,50‰-Röhrchen Nr. 1, 0,25‰ Nr. 6, 0,20‰ Nr. 7, 0,175‰ Nr. 7,5 und 0,05‰ Nr. 10 entspricht. Nach guter Vermischung werden die Reagensgläser in einem mit siedendem Wasser gefüllten Wasserbad 15 Min. erhitzt. Hierauf werden die Röhrchen herausgenommen und das Resultat abgelesen.

Das Resultat wird nach dem letzten Röhrchen bezeichnet, das noch grobe Ausflockung zeigt. Es kommt also nur auf deutlich sichtbare Verklumpungen an. Wenn bei sehr stark entzündlichen Prozessen, auch im Röhrchen mit der höchsten $CaCl_2$-Konzentration (Nr. 1), keine Flockung stattfindet, werden noch konzentriertere Lösungen benutzt, bis die Grenze festgestellt wird. 0,55‰ wird als I, 0,60‰ wird als II bezeichnet usw.

Auf Grund klinischer Erfahrung mit der WeR. soll die Flockungsgrenze des Normalserums, nach Angabe zahlreicher Autoren, zwischen 0,4 und 0,5‰ $CaCl_2$ liegen. Diese Autoren benutzten, entsprechend der ursprünglichen Angabe *Weltmanns*, eine Stammlösung, die in 100 ccm 10 g $CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$ enthielt. Diese Lösung

Albuminfraktionen.

Gesamt-Globulin g-%	Gesamt-Albumin g-%	Albumin-Globulin-Quotient	Nicht-eiweiß g-%	A_1 50,0–54,5 %	A_2 54,5–58,4 %	A_3 58,4–61,6 %	A_4 61,6–66,7 %	A_5 66,7–75,0 %	A_6 Rest nach 75 %	Viscosität	Takata	Farbstoff-adsorption an Kohle
1,50	5,01	3,34	1,39	0,64	0,82	0,18	2,54	0,83		1,67	—	0,179
1,22	3,48	2,85	1,35	0,88	0,32	0,50	—	—	—	—	—	0,135
2,73	5,62	2,05	1,20	0,47	0,20	0,28	1,04	0,25	3,38	1,98	—	0,387
2,14	6,39	2,99	1,35	0,15	0,15	0,44	1,14	0,19	4,32	2,35	—	0,750
2,24	5,12	2,28	1,35	0,52	0,44	0,33	0,18	1,23	2,42	1,91	—	—
1,90	6,04	3,18	1,24	0,36	0,68	0,61	0,74	0,36	3,29	1,85	—	0,668
2,78	3,33	1,16	1,54	0,08	0,80	0,35	0,14	0,20	1,75	1,85	+ 5	0,129
4,28	3,29	0,77	1,30	0,01	1,02	0,14	0,15	0,17	1,80	2,10	+ 5	0,415
0,24	2,43	10,0	0,00	0,04	0,26	0,11	0,35	0,47	1,21	1,65	+ 5	0,183
1,23	4,77	3,88	1,24	0,61	0,20	1,38		1,79	0,89	1,51	—	0,181
1,93	6,40	3,31	1,12	1,30	1,20	1,00	1,15	1,18	0,57	1,78	—	0,405
2,70	5,19	1,92	1,29	0,54	1,02	0,58	0,60	0,75	1,70	1,80	—	0,334
2,42	5,82	2,40	1,30	0,20	0,33	0,55	1,30	0,03	3,41	1,95	—	0,495
1,67	6,15	3,68	1,16	0,25	0,10	0,11	2,87	0,89	1,93	1,60	—	0,658
3,11	4,79	1,54	1,20	0,14	0,83	0,48	2,53	0,48	0,31	1,93	—	0,725
2,03	6,07	3,00	1,38	0,04	1,25	0,46	0,57	2,53	1,22	1,74	—	—
2,02	6,40	3,17	1,34	0,88	0,90	0,37	1,58	0,31	2,36	1,76	—	—
1,76	4,40	2,67	1,20	0,65	0,25	0,34	0,50	0,70	1,95	1,65	+ 6	0,231
3,50	4,02	1,15	1,10	0,30	0,14	0,22	0,66	0,08	2,62	2,05	+ 7	0,260
2,03	5,50	2,71	1,10	0,29	0,15	0,51	0,70	1,26	2,59	2,30	+ 6	0,315
3,40	4,36	1,28	1,10	0,09	0,39	0,11	0,57	0,38	2,82	2,15	+ 6	0,301
3,89	4,30	1,10	1,10	0,14	0,16	0,11	0,46	0,41	3,02	2,22	+ 5	—
2,83	5,93	2,10	1,05	1,40	0,53	0,40	0,32	0,50	2,78	2,20	+ 4	0,329
1,80	6,42	3,56	1,21	0,53	0,15	0,25	0,45	0,17	2,99	1,80	—	—
2,77	5,64	2,04	1,25	0,36	0,28	1,03	0,90	0,18	2,89	2,21	+ 5	—
3,37	5,64	1,67	1,30	0,36	0,78	0,57	0,69	0,68	2,56	2,35	+ 5	—
1,67	6,84	4,09	1,30	0,92	0,16	0,68	1,11	2,00	1,97	1,81	—	0,585
3,53	4,25	1,20	1,10	0,49	1,02	0,36	1,29	0,42	0,68	2,00	—	0,701
4,39	4,38	1,00	1,10	0,67	0,37	0,31	0,27	0,30	2,56	2,45	+ 6	—
4,38	4,20	0,96	0,96	0,06	0,20	0,13	0,23	0,43	3,15	2,88	+ 8	0,165

wurde als 10%ig betrachtet, in Wirklichkeit ist sie aber nur 5%ig, da $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ nur 50% $CaCl_2$ enthält. Die Normalgrenze liegt also in Wirklichkeit zwischen 0,25‰ (Röhrchen 6) und 0,20‰.

Weltmann und *Medvei* haben zahlreiche Versuche ausgeführt, um den *Mechanismus der Reaktion* aufzuklären. Das Ergebnis ihrer Untersuchungen ist kurz gefaßt folgendes.

1. Wenn Serum gegen destilliertes Wasser dialysiert wird, wird die WeR. im Adialysat um ein bis mehrere Röhrchen verbreitert. Da Salze und Körper, welche nicht an Eiweiß gebunden und dialysabel sind, wegdialysiert werden und das Globulin ausgefällt wird, bleibt nur das Albumin mit den an ihm haftenden Körpern sowie eine minimale Menge nicht dialysabler Körper in wäßriger Lösung. Da die Elektrolytkonzentration eine große Rolle spielt, ist es verständlich, daß bei diesem Salzverlust eine Verlängerung der WeR. auftritt. Das Wichtige an diesem Versuch ist, daß er beweist, daß die Albumine, in Abwesenheit der Globuline, fast genau so

Tabelle 2. WeR. und einige chemische

Nr.	Pat.	Diagnose	WeR.		Albumin-Globulin Quotient
			Nr.	$CaCl_2$ %	
1	Gs.	Hämolytischer Ikterus	8	0,15	0,82
2	Ny.	Cirrhosis hepatis	7,5	0,175	1,11
3	Fr.	Vitium cordis	7,5	0,175	1,81
4	Ba.	Pyelitis duplex, Ascaridiasis et Oxyuriasis	7	0,20	2,23
5	Bi.	Status nach Grippe	7	0,20	1,73
6	Me.	Cholelithiasis mit obstruktivem Ikterus	7	0,20	1,90
7	Hos.	Myodegeneratio cordis, Cirrhose (?), Tumor (?)	7	0,20	1,07
8	Haed.	CO-Vergiftung bei Epilepsie	6	0,25	2,46
9	Ma.	Diabetes mellitus, Arthrosis deformans	6	0,25	2,01
10	Rü.	Asthma bronchiale, Emphysema pulm.	6	0,25	2,14
11	Ts.	Spondylitis tbc. (geheilt)	6	0,25	1,98
12	Gr.	Stauungscirrhose der Leber	6	0,25	1,20
13	Kä.	Cholecystitis (?)	6	0,25	2,68
14	Sa.	Funktionelle Beschwerden	5	0,30	3,81
15	Mi.	Melanosarkomatose	4	0,35	1,82
16	Ni.	Tbc. pulm. duplex cavernosa	4	0,35	1,29
17	Lo.	Myodegeneratio cordis, Diabetes mellitus, Pleuratranssudat	4	0,35	1,63
18	Hu.	Pneumonie	4	0,35	1,53
19	Ov.	Grippe mit Meningismus	3	0,40	1,68
20	Dä.	Influenza, Muskelzerrung der Wade	3	0,40	2,93
21	Hof.	Lipoidnephrose	3	0,40	0,88
22	Has.	Gallenwegsentzündung	2	0,45	1,64
23	Haeg.	Pneumonie	1	0,50	2,00
24	Sch.	Apoplexie bei chronischer Nephritis	1	0,50	1,40

ausfallen wie im nativen Serum, daß also die Albumine selbst oder irgendwelche an ihnen haftende Substanzen für die Flockung verantwortlich sein dürften.

2. Serum, welches mit Bolus alba ausgeschüttelt worden ist, zeigt nach 1 bis 2 Behandlungen eine Verlängerung der WeR., aber nach mehrmaliger Behandlung eine Verkürzung, welche manchmal extrem sein kann. Verschiedene Seren verhalten sich prinzipiell gleich, aber eine Regellosigkeit besteht darin, daß ein Serum nach 1—2maliger Behandlung, ein anderes erst nach 4—5maliger Adsorption diese Umkehr zeigt. *Weltmann* und *Medvei* beschreiben dies als den Ausdruck einer *qualitativen Änderung im Serum.* Das Resultat meiner Untersuchung scheint dafür zu sprechen, daß es sich hierbei um eine Änderung in der Wasserstoffionenkonzentration handeln könnte.

3. Die WeR. ist durch Zusatz verschiedener Elektrolyten zu beeinflussen. Na und K hemmen die Flockung, Mg, Ba und Ca fördern sie.

Eigene Versuche.

A. Beziehungen zwischen WeR. und Eiweißgehalt, Albumin-Globulinquotient und Viscosität des Serums. Aus Tabelle 1 und 2 ist ersichtlich, daß weder der Gesamteiweiß-, der Albumin- oder Globulingehalt, noch der Albumin-Globulinquotient oder die Viscosität des Serums ein gesetzmäßiges Verhalten zum Ausfall der WeR. aufweisen.

Auch *Kretz* und *Kudlac* fanden keine Beziehung zwischen dem Eiweißgehalt des Serums und dem Ausfall der WeR. *Massobrio* und *Michaelis* stellten in 41 Fällen

und physikalische Faktoren im Serum.

Gesamteiweiß g-%	Albumin g-%	Globulin g-%	Viscosität	Amino-N g-%	Amino-N pro g Eiweiß	Takata	Bilirubin	*Milbradt* ccm N/100 H_2SO_4	Senkung nach 1/2/24 Std.
6,78	3,06	3,72	2,08	99,6	14,7	+ 3	4,25	0,09	80/140/175
6,18	3,25	2,39	1,90	72,6	11,7	6	norm.	0,14	79/111/118
9,52	6,13	3,39	1,90	97,8	10,3	—	„	0,275	2/ 5/ 42
8,23	5,68	2,55	1,97	122,2	14,9	3	„	0,21	2/ 5/ 54
7,92	5,02	2,90	2,05	80,4	10,1	—	„	0,205	14/ 36/ 99
7,79	5,10	2,69	2,00	82,3	10,6	1	(+)	0,225	101/113/121
7,53	3,90	3,63	2,18	77,0	10,2	6	norm.	0,16	40/ 73/120
9,14	6,50	2,64	1,95	97,6	10,7	—	„	0,255	13/ 34/ 90
8,35	5,58	2,77	2,00	89,7	10,7	—	„	0,20	93/125/133
8,45	5,76	2,69	2,02	91,8	10,8	—	„	0,21	5/ 15/ 70
7,70	5,12	2,58	2,00	92,7	12,0	—	„	0,235	29/ 55/ —
6,81	3,71	3,10	1,85	65,6	9,6	5	(+)	0,15	38/ 65/102
7,61	5,54	2,07	1,95	81,5	10,7	—	norm.	0,20	1/ 3/ 47
8,72	6,92	1,80	1,92	85,4	9,8	—	„	0,20	3/ 5/ 44
7,64	4,93	2,71	2,03	83,2	10,9	—	„	0,19	87/127/135
7,27	4,10	3,17	2,05	71,5	9,8	—	„	0,24	65/107/127
8,96	5,56	3,40	2,20	88,7	9,9	3	„	0,175	—
6,85	4,14	2,71	1,98	73,8	10,8	—	„	0,26	87/114/125
8,49	5,33	3,16	2,08	90,6	10,7	—	„	0,27	68/115/125
7,39	5,51	1,88	1,75	77,5	10,5	—	„	0,29	5/ 11/ 64
5,24	2,45	2,79	1,65	51,8	9,9	5	„	0,20	141/144/147
7,92	4,92	3,00	2,17	86,8	10,9	—	„	0,195	71/105/135
6,97	4,65	2,93	1,88	74,9	10,7	—	„	0,225	39/ 72/112
8,75	4,63	3,32	2,35	94,4	10,8	—	„	0,20	5/ 16/ 80

(meistens Leberschädigungen) keinen Zusammenhang zwischen WeR. und Gesamteiweiß-, Globulin-, Albuminmenge und Albumin-Globulin-Quotient fest. Das Auffallende an ihren Resultaten ist, daß viele niedrige Albumin-Globulin-Quotienten unter den Seren mit verlängerter WeR. zu finden sind. Da dieser Quotient bei Leberleiden öfters erniedrigt ist, und die WeR. dabei meistens verlängert ist, könnte man denken, daß irgendeine Beziehung bestehe. Da aber dialysiertes Serum mit einem enorm vergrößerten Albumin-Globulin-Quotienten immer noch eine verlängerte WeR. aufweist, ist irgendwelcher diesbezüglicher Zusammenhang wohl ausgeschlossen.

Kyriakis hat aus Seren von drei Patienten die Fibrinogen-, Globulin- und Albuminfraktionen isoliert und die WeR. in den Eiweißlösungen sowie in verschiedenen Gemischen dieser Lösungen angestellt. Dabei hat er keine Gesetzmäßigkeit feststellen können. Leider wird in der Arbeit nicht gesagt, ob die Eiweißlösungen von Elektrolyten, welche eine so große Rolle bei dieser Reaktion spielen, befreit worden waren oder nicht.

Baldauf beschreibt eine auffallende Parallelität zwischen dem Thrombingehalt des Blutes und dem Ausfall der WeR.

B. Beziehung zwischen Albuminfraktionen und WeR. Nach *Weltmann* und *Medvei* muß die Ursache der WeR. mit dem Albumin des Serumeiweißes verknüpft sein (s. vorne). Ein Zusammenhang zwischen Albumingehalt des Serums und Ausfall der WeR. besteht, wie eben gezeigt wurde, nicht. Die Zusammensetzung der Serumalbumine aus

Teilen verschiedener Dispersität kann stark schwanken, ohne daß die Gesamtmenge des Albumins verändert zu sein braucht. Daher werden die Albumine mit Ammonsulfat fraktioniert ausgefällt. Ob die Voraussetzung, daß grob disperse Albumine bei geringer Konzentration des Fällungsmittels, feiner disperse Albumine hingegen erst bei höheren Konzentrationen ausfallen, berechtigt ist, erscheint nach den Resultaten von *Sörensen,* wonach alle Ammonsulfatfraktionen denselben osmotischen Druck haben, allerdings fraglich.

Das Serum wurde mit verschiedenen Mengen kaltgesättigten (mit Ammoniak neutralisierten) Ammonsulfates gemischt, 3 Stunden stehen gelassen, $4^1/_4$ Stunde bei hoher Tourenzahl zentrifugiert, und der Brechungsindex mittels des *Pulfrich*schen Eintauchrefraktometers bestimmt.

In den 30 untersuchten Seren konnte, wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, keine Parallelität zwischen der Zusammensetzung der Albumine aus verschiedenen Ammonsulfatfraktionen und der WeR. nachgewiesen werden.

C. Auch die aus Serum nach Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung und Farbstoffzusatz an Kohle adsorbierbare Farbstoffmenge, von der *Gottlieb* und *Ludwig* gezeigt haben, daß sie weitgehend von der Leberfunktion abhängig ist, zeigt, wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, keinerlei Parallelität zur WeR., so daß nicht anzunehmen ist, daß diese zwei Reaktionen irgendeine Beziehung zueinander haben, obwohl beide anscheinend eng mit den Albuminen zusammenhängen.

D. Beziehung zwischen Aminostickstoffgehalt im Serum und WeR. Wenn der Ausfall der WeR. weder durch die Quantität noch durch die Zusammensetzung der Albumine im Serum bedingt ist, scheint es wahrscheinlich, daß die an die Albumine adsorbierten Substanzen dafür verantwortlich sein könnten. Eine solche Adsorption ist zweifellos oft chemisch bedingt. Als Gruppen, an die sich weitere Substanzen anlagern können, kommen bei den Bluteiweißkörpern hauptsächlich die Amino- und Hydroxylgruppen in Betracht. Daher wurde der Aminostickstoffgehalt (nach *van Slyke*) im Gesamtserum bestimmt. Es war keine Beziehung zu finden, außer daß, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, die höchsten Amino-N-Werte pro Gramm Eiweiß in den Seren mit verlängerter WeR. nachgewiesen wurden.

E. Beziehung zwischen Cholesteringehalt des Serums und WeR. Als Körper, welcher zum mindesten teilweise an Eiweiß adsorbiert wird, ist Cholesterin zu nennen. Es wurde daher in ein paar Fällen die Cholesterinbestimmung im Serum und die WeR. parallel ausgeführt. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist, besteht offenbar kein Zusammenhang zwischen dem Cholesteringehalt des Serums und dem Ausfall der WeR.

F. Einige Labilitätsreaktionen in Beziehung zu der WeR. Da die sog. Labilitätsreaktionen des Serums auf noch nicht faßbaren Faktoren

beruhen, wurde versucht, eine mögliche Beziehung zwischen diesen und der WeR. nachzuweisen.

1. Modifizierte Takata-Reaktion. Wie aus den Tabellen 1 und 2 ersichtlich ist, besteht keine Parallelität zwischen der modifizierten Takata-Reaktion und der WeR. Die *Takata*-Reaktion ist manchmal auch in Seren positiv, die eine normale WeR. aufweisen, meist, d. h. bei der Lebercirrhose, fällt die *Takata*-Reaktion mit verlängerter WeR. zusammen.

Auch *Skouge* sowie *Carrière*, *Martin* und *Dufossé* fanden keine Parallelität zwischen der WeR. und der modifizierten *Takata*-Reaktion.

Tabelle 3. WeR. und Cholesteringehalt im Serum.

Pat.	WeR.	Cholesterin in g-%		
		Gesamt	Frei	Ester
Ho.	3	0,30	0,16	0,14
Ho.	3	0,28	0,16	0,12
Ho.	4	0,27	0,14	0,13
Mi.	4	0,17	0,10	0,07
Gr.	7	0,20	0,11	0,09

2. Milbradtsche Myosalvarsanreaktion. Milbradt hat eine Serumlabilitätsreaktion angegeben, deren Mechanismus noch wenig erforscht worden ist. Die Reaktion besteht darin, daß 0,1 ccm Serum mit 0,1 ccm einer 1%igen Myosalvarsanlösung vermischt und gegen N/100 H_2SO_4 titriert wird, bis eine Trübung auftritt.

Ich habe gefunden, daß wenn man statt 0,1 ccm Myosalvarsan, 0,2 ccm benutzt, die gleiche Menge Schwefelsäure nötig ist, um die Trübung hervorzurufen wie mit 0,1 ccm Myosalvarsan. Wenn man dagegen 0,2 ccm Serum benutzt statt 0,1 ccm, ist zweimal soviel Schwefelsäure nötig, um eine Trübung zu verursachen. Dies spricht dafür, daß die Quantität des Serums oder eines Bestandteils davon für den Ausfall dieser Reaktion verantwortlich sein muß. Da keine Veränderung im Ausfall der WeR. auftritt, wenn man doppelt soviel Serum zusetzt, ist es nicht anzunehmen, daß eine Beziehung zwischen der Myosalvarsanreaktion und der WeR. besteht.

Nichtsdestoweniger habe ich die Reaktionen in 30 Fällen parallel ausgeführt und habe dabei, wie aus Tabelle 2 zu sehen ist, keinen Zusammenhang nachweisen können.

G. Versuche mit Essigsäure. Auf der Suche nach anderen Reagenzien (als Neutralsalzen), die beim Erhitzen auf 100° eine Koagulation bewirken, fand ich, daß Essigsäure in Konzentrationen von N/1200 bis N/900 eine Hitzekoagulation bewirkt ähnlich der der WeR. Die Technik war folgende: Je 0,1 ccm Serum wurden in eine Reihe Reagensgläschen gegeben und mit 5,0 ccm der verschiedenen Konzentrationen der Essigsäure verdünnt. Die Gläschen wurden 15 Min. im kochenden Wasserbad erhitzt, herausgenommen und wie bei der WeR. abgelesen. In einem Fall von Lebercirrhose mit einer WeR. von 7,5 (0,175‰) fand Koagulation bei N/1164 Essigsäure statt, in einem Fall von Pleuritis exsudativa mit einer WeR. von 1 (0,50‰) erst bei N/918 Essigsäure. Auch in weiteren Versuchen bestand auffallende Parallelität zwischen dem Ausfall beider Reaktionen.

H. Änderungen in p_H in den Calciumchloridlösungen durch Erhitzen. Da es daraufhin wahrscheinlich erschien, daß eine Verschiebung im p_H den verschiedenen Ausfall der WeR. bedingen könne, wurde das p_H in den *Weltmann*schen Stammlösungen bei 18° C vor und nach Zusatz von Serum, vor und nach Kochen bestimmt. Dabei konnte keinerlei Änderung nachgewiesen werden. Als Meßinstrument wurde ein Potentiometer mit einer Chinhydronelektrode benutzt. Damit ist aber nicht ausgeschlossen, daß das p_H bei 100° C also im Augenblick der Ausflockung doch verschoben ist. Es steht uns leider keine Methode zur Verfügung, um p_H bei dieser Temperatur zu messen.

Chick und *Martin* haben im Jahre 1913 die Beziehungen zwischen der Hitzekoagulation in normalem Pferdeserum, unter Zusatz verschiedener Elektrolyten, und den Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration, die durch diese Beimengungen bedingt werden, eingehend untersucht. Es hat sich dabei herausgestellt, daß der Zusatz von allen Salzen außer Kalksalzen eine Änderung in der Wasserstoffionenkonzentration bewirkt. Dies spricht dafür, daß Calcium, in seiner Beziehung zu den Eiweißkörpern, eine Sonderstellung einnimmt.

I. Versuche mit Acetatpuffern. An Stelle der Calciumchloridlösungen wurden M/20 Acetatpufferlösungen nach *Walpole* benutzt und wieder die gleiche Parallelität zur WeR. nachgewiesen (Tabelle 4) wie mit Essigsäure. Die Technik war folgende: 5,0 ccm M/20 Pufferlösung wurden zu 0,1 ccm Serum zugegeben, 15 Min. erhitzt und wie bei der WeR. abgelesen.

Tabelle 4. Beziehung zwischen WeR. und Hitzekoagulation in Acetatpufferlösungen.

Nr.	Pat.	Diagnose	WeR.	Höchstes p_H, bei dem Koagulation auftritt
1	Bl.	p-Nitroanilinvergiftung	7,5	5,8
2	Mü.	Diabetes mellitus	7	5,6
3	We.	Lambliasis intestinalis	6	5,4
4	Gl.	Diabetes, Cirrhosis hepat.	6	5,4
5	To.	Stauungspneumonie, Asthma	2	4,8
6	Be.	Meningitis	II	4,8
7	Wa.	Tbc. pulm. duplex	IV	4,6

Diese Reaktionen sind nicht zu verwechseln mit dem „pathologischen Säureeffekt" *(Weltmann* und *Klimesch)*, da dieser nur in einer Trübung besteht, wenn ein Tröpfchen Serum mit 10 ccm verschiedener Konzentrationen von Essigsäure in der Kälte vermischt wird. Diese Trübung ist bei Verdünnung, sowie bei Zusatz von Säure wieder auflösbar, während die Hitzekoagulation in Neutralsalz-, in Säure-, sowie in Pufferlösung ein irreversibles Phänomen darstellt.

K. Versuche mit Phthalatpuffern. Da diese Acetatpuffer verschiedene Quantitäten von Metallionen enthalten, das Pufferungsgebiet sich nicht weit genug gegen den Neutralpunkt erstreckt, und da diese Lösungen rasch mit Pilzen überwuchert werden (der Zusatz von Thymol schien mir

bei einer so empfindlichen Reaktion unerwünscht), bin ich dazu übergegangen, eine isomolare Biphthalatpufferserie zu benutzen, deren Zusammensetzung aus Tabelle 5 zu ersehen ist. Phosphatpuffer der gleichen Konzentration wurden für das höhere p_H Gebiet mit M/10 KH_2PO_4 und M/10 KOH hergestellt.

Zu 5,0 ccm dieser Lösungen wurde 0,1 ccm Serum zugegeben, geschüttelt, 15 Min. im kochenden Wasserbad erhitzt, abgelesen wie bei der WeR., gekühlt und das p_H bei 18° C bestimmt (elektrometrisch mittels der Chinhydronelektrode).

Tabelle 5.
Zusammensetzung der M/40 isomolaren Biphthalatpufferlösungen.

p_H	ccm M/10 Kali biphthalat	ccm M/10 KOH	ccm Aqua dest.	p_H	ccm M/10 Kali biphthalat	ccm M/10 KOH	ccm Aqua dest.
0,4	99,0	1,0	300	5,1	65,0	35,0	300
4,1	96,0	4,0	300	5,2	62,5	37,5	300
4,2	93,0	7,0	300	5,3	60,5	39,5	300
4,3	90,0	10,0	300	5,4	58,5	41,5	300
4,4	87,0	13,0	300	5,5	57,0	43,0	300
4,5	83,5	16,5	300	5,6	56,0	44,0	300
4,6	80,5	19,5	300	5,7	55,0	45,0	300
4,7	77,5	22,5	300	5,8	54,0	46,0	300
4,8	74,0	26,0	300	5,9	53,0	47,0	300
4,9	71,0	29,0	300	6,0	52,0	48,0	300
5,0	68,0	32,0	300				

Wie aus Tabelle 6 leicht ersichtlich ist, gehen die Reaktion mit Phthalatpuffern und die WeR. in diesen 40 Fällen weitgehend parallel. Ein Punkt, welcher leider nicht gedeutet werden konnte, ist, daß mit den Lösungen zwischen p_H 5,3 und 5,9 keine Flockungsgrenze zu erzielen war. Einige Seren mit WeR. 7 (0,20‰) flockten zwischen p_H 5,12 und 5,21 aus, andere dagegen erst bei p_H 5,92 bis 6,01.

Um zu beweisen, daß das p_H der Pufferlösung für den Ausfall der Reaktion verantwortlich ist, habe ich M/20, M/40 und M/100 Phthalatpufferlösungen benutzt und gefunden, daß die Koagulation immer in den Röhrchen mit gleichem p_H stattfindet unabhängig von der molaren Konzentration, daß also der Ausfall vom p_H des Gemisches Puffer-Serum abhängt, und nicht von der Konzentration der puffernden Substanz.

Da beide Reaktionen parallel verlaufen ist, es wohl denkbar, daß sie irgendwie mit dem isoelektrischen Zustand des Eiweißes bei 100° C in Zusammenhang stehen. Da es bis jetzt nicht gelungen ist, den isoelektrischen Punkt in Eiweißkörpergemischen zu bestimmen, und da die vorbereitende Reinigung zu eingreifend ist, als daß nachher noch die selbe innere Struktur vorliegen könnte, muß ich den Beweis dafür allerdings schuldig bleiben.

Tabelle 6. Beziehung zwischen WeR. und Hitzekoagulation in Biphthalatpufferlösungen.

Nr.	Pat.	Diagnose	WeR.	Höchstes p_H, bei dem Koagulation auftritt
1	La.	Lebercirrhose	8	6,19
2	Ge.	Neoplasma der Gallenwege, perniziöse Anämie	8	6,19
3	Ny.	Lebercirrhose	7,5	6,18
4	Fr.	Vitium cordis	7,5	6,17
5	Ho.	Myodegeneratio cordis, Cirrhosis (?)	7	6,03
6	Vo.	Lebercirrhose	7	5,93
7	Ba.	Pyelitis, Ascaridiasis	7	5,16
8	Bi.	Status nach Grippe	7	5,19
9	Me.	Obstruktiver Ikterus	7	5,17
10	Le.	Myodegeneratio cordis	6	5,19
11	Se.	Lebercirrhose	6	5,13
12	Bo.	Intoxikation mit Benzin	6	5,16
13	Am.	Chronische leukämische Myelose	6	5,18
14	Ro.	Skleritis	6	5,14
15	Sm.	Ulcus duodeni	6	5,16
16	Ra.	Lumbago	6	5,18
17	Fa.	Peniscarcinom (Rezidiv)	6	5,14
18	Ha.	CO-Vergiftung bei Epilepsie	6	5,14
19	Ma.	Diabetes mellitus, Arthrosis deformans	6	5,19
20	Rü.	Asthma bronchiale	6	5,15
21	Ts.	Abgeheilte Spondylitis-Tbc.	6	5,18
22	Gr.	Stauungscirrhose	6	5,16
23	Kä.	Cholecystitis	6	5,17
24	Wa.	Schizophrenie	5	5,07
25	Mu.	Ca. ventriculi	5	5,09
26	Sa.	Funktionelle Beschwerden	5	5,06
27	Mi.	Melanosarkomatose	4	5,06
28	Ni.	Tbc. pulm. duplex cavernosa	4	5,04
29	Lo.	Myodegeneratio cordis, Pleuratranssudat	4	5,07
30	Hu.	Pneumonie	4	5,06
31	De.	Influenza	3	4,95
32	Ov.	Grippe, Meningismus	3	4,94
33	Ho.	Lipoidnephrose	3	4,96
34	Sa.	Tbc. pulm. exsudativa	2	4,93
35	Ha.	Gallenwegsentzündung	2	4,92
36	Hä.	Pneumonie	1	4,87
37	Sä.	Apoplexie bei chronischer Nephritis	1	4,87
38	Fr.	Tbc. pulm. exsudativa	1	4,82
39	Fr.	Schwere Colicystitis	1	4,83
40	Wi.	Pneumonie	X	4,79

Zusammenfassung.

1. Das 1 : 50 mit Essigsäure, Acetatpufferlösungen oder Biphthalatpufferlösungen verdünnte Serum zeigt beim Erhitzen eine Koagulationsgrenze, die der *Weltmann*schen Reaktion parallel verläuft. Bei entzündlichen Erkrankungen tritt die Koagulation bei höherer Wasserstoffionenkonzentration als normalerweise ein, bei gewissen anderen Erkrankungen (vor allem Leberschädigungen) tritt sie bei niedrigerer Wasserstoffionenkonzentration ein.

2. Die Menge des Aminostickstoffes im Gesamtserum pro Gramm Eiweiß zeigt eine Erhöhung bei verlängerter *Weltmann*scher Reaktion.

3. Das Mengenverhältnis der (durch Ammonsulfat in verschiedenen Konzentrationen gefällten) Albuminfraktionen scheint keine Beziehung zum Ausfall der *Weltmann*schen Reaktion zu haben.

4. Eine Parallelität zwischen der *Weltmann*schen Reaktion und der Viscosität, dem Albumin-Globulin-Quotienten, dem Globulin-, Albumin-, Gesamteiweiß-, Cholesterin- und Cholesterinestergehalt des Serums scheint nicht zu bestehen.

5. Weder modifizierte *Takata*-Reaktion noch *Milbradt*sche Myosalvarsanreaktion zeigen Parallelität zur *Weltmann*schen Reaktion.

Schrifttum.

Baldauf: Diss. Leipzig 1935. — *Carrière, Martin, Duffossé:* C. r. Soc. Biol. Paris **118**, 460 (1935). — *Chick* u. *Martin:* Kolloidchem. Beih. **5**, 87 (1913). — *Cossu, Didaco:* Fol. med. (Napoli) **1924**, 321. — *Ehrenteil* u. *Weis-Osborn:* Klin. Wschr. **1923 I**, 586. — *Gottlieb* u. *Ludwig:* Z. klin. Med. (im Druck). — *Hoefft, v.:* Verh. Naturw. u. Ärzteges. Wien 1913. — *Kretz* u. *Kudlac:* Z. klin. Med. **127**, 590 (1934). — *Kyriakis:* Klin. Wschr. **1935 I**, 828. — *Massobrio* u. *Michaelis:* Minerva Med. **25**, 147 (1934). — *Mayer* u. *Rosenow:* Klin. Wschr. **1922 II**, 1693. — *Milbradt:* Z. physiol. Chem. **200**, 166 (1931). — *Schade:* Med. Klin. **1909**, H. 29 u. 30. — *Skouge:* Klin. Wschr. **1933 I**, 905. — *Sörensen:* Kolloid-Z. **53**, 102 (1930). — *Walpole:* Internat. Critical Tables **1926 I**, 84. — *Weltmann, O.:* Med. Klin. **1930 I**, 240. — Wien. klin. Wschr. **1930 II**, 1301. — *Weltmann* u. *Klimesch:* Z. exper. Med. **43**, 626 (1924). — *Weltmann* u. *Medvei:* Z. klin. Med. **118**, 670 (1931). — *Weltmann* u. *Sieder:* Wien. Arch. inn. Med. **24**, 321 (1934).